Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 2, Summer 2023, p. 185-197

Comparison of Organic and Mineral Selenium on Performance, Microbial Population, Intestinal Histopathologhy and Cecum Acidity of Laying Hens

Zahra Tahami[1], Behrouz Dastar[2*], Ehsan Oskoueian[3], Seyed Reza Hashemi[4]

Received: 14-08-2022 Revised: 04-10-2022 Accepted: 17-10-2022 Available Online: 17-10-2022	**How to cite this article:** Tahami, Z., Dastar, B., Oskoueian, E., & Hashemi, S.R. (2023). Comparison of Organic and Mineral Selenium on Performance, Microbial Population, Intestinal Histopathologhy and Cecum Acidity of Laying Hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(2),185-197. DOI:10.22067/ijasr.2022.78197.1096

Introduction: Selenium is an essential mineral for many metabolic functions of the body, including the activation of enzymes and the optimal biochemical and physiological function of birds (Antongiovanni *et al*., 2007). Selenium protects cell membranes from oxidative damage and can therefore improve nutrient efficiency (Arner et al., 2012). The small intestine is the most important part in the digestion and absorption of nutrients, while the large intestine and intestinal tract are very important areas for the accumulation of microbes (Chitra *et al*., 2013). Gastrointestinal health is one of the most important and effective factors in bird function. Gastrointestinal microbial population affects the nutrition and health of various animal species, including poultry. These microorganisms need trace elements such as selenium to perform their normal metabolic functions. Selenium may affect bacterial cells by disrupting the respiratory chain (Pappas *et al*., 2005). In addition to improving the quality and composition of intestinal microflora, selenium can have a positive effect on the morphology of the intestine as an antioxidant (Haghighi-khoshkhoo *et al*., 2010). Despite these benefits, the effect of selenium on intestinal microbial population is largely unknown, so the aim of this study was to investigate the effect of different levels of organic and inorganic selenium in the diet on microbial population, intestinal morphology and intestinal acidity in laying hens.

Materials and Methods: The experiment was conducted in a completely randomized design with 300 laying hens of high-line strains from 23 to 35 weeks of age with 5 treatments, 6 replications and 10 hens per replication. Experimental treatments include 1- Base diet (without selenium), 2- Base diet + 0.5 mg/kg sodium–selenite, 3- Base diet + mg/kg 1 selenite–sodium, 4- Base diet + mg/kg 0.5 selenium-methionine, 5-base diet + 1 mg/kg selenium-methionine. At the end of the experiment, two birds were randomly selected from each replicate; To evaluate the microbial population, a sample of the contents of the cecum on the culture medium was used (1). Tissue samples were prepared and then measured using a microscope, villi length, villi width, crypt depth, and number of goblet cells (9). To measure acidity, samples were taken from the contents of the cecum, and acidity was measured by a pH meter.

Results and Discussion: The results indicate that consuming 1 mg/kg of selenium-methionine increased the villi area compared to the control treatment. The experimental treatments did not affect villi length, villi

1- Ph.D of Poultry Nutrition, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2- Professor of Poultry Nutrition, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3- Assistant Professor in Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Mashhad, Iran.
4- Associate Professor in Poultry Physiology, Department of Animal and Poultry Genetics, Breeding and Physiology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
*Corresponding Author's Email: dastar@gau.ac.ir

width, crypt depth, number of goblet cells, and the ratio of villus length to crypt depth. The consumption of 1 mg/kg of selenium-methionine significantly decreased the population of Salmonella and increased the population of Lactobacillus in the cecal compared to other experimental treatments. The consumption of 0.5 and 1 mg/kg of selenium-methionine caused a significant decrease in the population of aerobic bacteria compared to the control treatment. The acidity of cecal contents in the treatment containing 1 mg/kg of selenium-methionine was significantly reduced compared to the control treatment. Several studies (Langhout *et al*., 1999, Lukaszewicz *et al*., 2011, Pappas *et al*., 2005) have reported that using organic sources of selenium reduces the coliform population. In mice, dogs, and laying hens, selenium intake has been shown to increase the number of Lactobacillus and decrease Escherichia coli and Staphylococcus aureus in the cecum (Langhout *et al*., 1999, Lukaszewicz *et al*., 2011, Pappas *et al.*, 2005). Increasing the population of beneficial bacteria due to the provision of sufficient selenium for their synthesis is also an antioxidant property of selenium in preserving the life of these bacteria. It appears that beneficial bacteria, such as Lactobacillus, can competitively eliminate harmful bacteria such as Escherichia coli in the gut (Lukaszewicz *et al*., 2011). An increase in the number of pathogenic bacteria in the intestine causes the villi to shorten and the lining to shrink (Attia *et al*., 2010).Numerous studies demonstrate that the consumption of diets containing selenium compounds has destructive effects on harmful intestinal bacteria (Chantiratikul *et al*., 2008, Hashemi *et al*., 2012, Heindl *et al.*, 2010, Horn *et al*., 2009, Langhout *et al*., 1999). Adding organic selenium to the diet of broilers increases the weight of the intestines due to the growth of villi and intestinal lamina propria (Haghighi-khoshkhoo *et al*., 2010, Heindl *et al*., 2010). The lack of selenium consumption on morphology can be attributed to the levels of selenium used, as well as the bird's lack of stress. Selenium can exert its effect more effectively under stress conditions. Most harmful bacteria grow in an environment with acidity close to 7 or slightly higher, while beneficial bacteria multiply in an acidic environment and compete with pathogenic bacteria (Cooke *et al*. 1973). An increase in acidity leads to a decrease in Escherichia coli and Salmonella in the gastrointestinal tract. Therefore, the consumption of organic sources of selenium reduces the population of pathogenic microorganisms (aerobic bacteria, Escherichia coli, and Salmonella) and increases the population of Lactobacillus competitively, followed by an increase in gastrointestinal acidity. This improvement may lead to an increase in digestion, absorption, and performance (Kasaikina *et al*., 2011).

Conclusion: According to the results of this study, it can be said that consuming organic sources of selenium (levels of one and 0.5 mg of selenium-methionine per kg of feed) significantly reduces the population of harmful aerobic bacteria, bacteria. Salmonella and Escherichia coli and cause a competitive increase in the beneficial population of Lactobacillus; The consequence of this operation is to increase the acidity of the cecum and reduce the damage and microbial destruction to the intestinal tissue, and therefore with positive changes in the morphology of the small intestine will lead to improved bird function.

Keywords: Intestinal morphology, Laying hens, Microbial population

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص . ۱۹۷-۱۸۵

مقایسه اثرات سطوح مختلف سلنیوم آلی و معدنی بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و اسیدیته‌ی روده کور مرغ‌های تخم‌گذار

زهرا تهامی[۱]، بهروز دستار[۲*]، احسان اسکوئیان[۳]، سیدرضا هاشمی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۵

چکیده

این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف سلنیوم آلی و غیرآلی در جیره بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و اسیدیته روده کور مرغ‌های تخم‌گذار انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳۰۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌های-لاین از سن ۲۳ تا ۳۵ هفتگی با پنج تیمار، شش تکرار و ۱۰ قطعه مرغ در هر تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه (فاقد سلنیوم)، ۲- جیره پایه+ ۰/۵ mg/kg سلنیت- سدیم، ۳- جیره پایه + ۱ mg/kg سلنیت- سدیم، ۴- جیره پایه + ۰/۵ mg/kg سلنیوم- متیونین، ۵- جیره پایه + ۱ mg/kg سلنیوم- متیونین بودند. درصد تولید، توده وزنی و وزن تخم‌مرغ و در ریخت‌شناسی روده از جمله طول پرز، عرض پرز، عمق کریپت، تعداد سلول‌های گابلت، نسبت طول پرز به عمق کریپت و مساحت پرز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین سبب کاهش معنی‌دار جمعیت *سالمونلا* و افزایش معنی‌دار جمعیت *لاکتوباسیلوس* روده کور در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد، با این حال بین تیمارهای آلی و معدنی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مصرف ۰/۵ و یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین سبب کاهش معنی‌دار جمعیت باکتری‌های هوازی نسبت به شاهد شد. اسیدیته محتویات روده کور در تیمار حاوی یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین نسبت به شاهد و تیمارهای دریافت‌کننده سلنیت سدیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. از نتایج حاصل می‌توان نتیجه گرفت؛ مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم-متیونین با کاهش جمعیت *سالمونلا* و افزایش جمعیت *لاکتوباسیلوس* اثرات مثبتی بر ریخت‌شناسی روده داشته و سبب افزایش اسیدیته محتویات روده کور می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده، مرغ تخم‌گذار.

مقدمه

سلنیوم یک ماده معدنی است که برای بسیاری از اعمال متابولیکی بدن از جمله فعال شدن آنزیم‌ها و عملکرد مناسب بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی پرندگان ضروری است (Arner, 2012). سلنیوم غشای سلولی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت نموده و در نتیجه، می‌تواند سبب بهبود کارایی استفاده از مواد مغذی شود (Chitra *et al.*, 2013). سلنیوم یک جزء اساسی از آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز است که در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسیدهای لیپیدی نقش بازی می‌کند و با اثر آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود پاسخ‌های ایمنی می‌شوند (Koyancu and Yerlikaya, 2007).

روده کوچک مهم‌ترین بخش در زمینه هضم و جذب مواد مغذی می‌باشد، درحالی‌که روده بزرگ و روده کور نواحی بسیار مهمی برای

۱- دانشجوی دکتری تغذیه طیور گروه تغذیه دام و طیور دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۲- استاد گروه تغذیه دام و طیور دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۳- استادیار بیوتکنولوژی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی. مدیریت بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شرق و شمال شرق (مشهد)، ایران.
۴- دانشیار گروه ژنتیک، اصلاح و فیزیولوژی دام و طیور، دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email:dastar@gau.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.78197.1096

استقرار میکروب‌ها هستند (Ebrahimi, 2007). سلامتی دستگاه گوارش یکی از عوامل مهم و مؤثر در عملکرد پرنده می‌باشد. مواد مغذی، الکترولیت‌ها از طریق پرزهای روده کوچک جذب می‌شود که ارتفاع پرزها می‌تواند بر هضم و جذب موادغذایی مؤثر باشد (Ghiasi Ghalehkandi *et al*., 2011). ریخت‌شناسی پرزهای روده و سلول‌های اپیتلیال به عملکرد و سرعت رشد روده مربوط می شود که در آن افزایش ارتفاع پرزهای روده نشان‌دهنده فعال بودن عملکرد پرزهای روده است (Langhout *et al*., 1999). کمبود سلنیوم باعث التهاب مخاط روده می‌شود (Liu *et al*., 2016). نتایج نشان می‌دهند که کمبود سلنیوم بر مخاط و سلول‌های ژژنوم تأثیر می‌گذارد. عوامل زیادی مانند سن، میکروفلور روده و مواد غذایی بر روی ارتفاع پرزها و رشد تأثیر می‌گذارد (Wang *et al*., 2011). نتایج برخی از پژوهش‌های محققین حاکی از تأثیر مثبت افزودن سلنیوم بر پارامترهای روده می‌باشد. گزارش شده است سلنیوم آلی تأثیر مثبتی در محافظت از پرزهای روده در برابر بیماری‌ها دارد و باعث افزایش طول پرزها و عمق کریپت در ژژنوم و ایلئوم نسبت به سلنیت سدیم و یا بدون سلنیوم در جوجه گوشتی شد (Read-Snyder *et al*., 2009). احمدی و همکاران (Ahmadi *et al*., 2019) گزارش کردند استفاده از سطوح مختلف سلنیوم در بلدرچین ژاپنی، هیچ تأثیری بر طول پرز روده کوچک ندارد، امّا به‌طور معنی‌داری باعث افزایش عمق کریپت در ۳۵ روزگی شد. نانوسلنیوم (۰/۱ تا ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر وزن، طول و عرض دوازدهه ژژنوم و ایلئوم تأثیری نداشت. گزارش کردند مکمل نانوسلنیوم بر ارتفاع پرزها در تمام قسمت‌های روده به‌جز ایلئوم روده جوجه گوشتی مؤثر بود (Zamani-Moghaddam *et al*., 2017). نتایج نشان داده است مصرف مخمرسلنیوم در جوجه گوشتی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش طول پرز، نسبت طول پرز به عمق کریپت شد (Tong *et al*., 2020).

جمعیت میکروبی دستگاه گوارش بر تغذیه و سلامتی گونه‌های مختلف حیوانی از جمله طیور تأثیر می‌گذارد. این میکروب‌های روده موجوداتی زنده بوده و دارای احتیاجات غذایی هستند، بنابراین توانایی هضم و جذب در دستگاه گوارش حیوان، وابسته به گونه گسترش یافته و کل جمعیت میکروب‌های آن می‌باشد (Ebrahimi, 2007). ریزجانداران روده‌ای نقش مهمی در تنظیم فرآیندهایی مانند بلوغ و تکثیر سلول‌های روده، هضم غذا، حفاظت از باکتری‌های بیماری‌زا و پاسخ مخاط ایمنی بدن دارند (Hattori and Taylor, 2009). در باکتری‌های هوازی نظیر *اشرشیاکلای*، تولید انرژی از طریق آنزیم‌های تنفسی که به زنجیره تنفسی متکی هستند، انجام می‌گیرد؛ به احتمال زیاد سلنیوم با برهم‌زدن زنجیره تنفسی باعث اثرگذاری بر سلول‌های باکتری می‌شود (Zhihua *et al*., 2011). با بررسی تعامل بین سلنیوم و آنزیم‌های زنجیره تنفسی در *اشرشیاکلای* مشخص شد سلنیوم از طریق یکسری از مکانیسم‌های ناشناخته باعث جلوگیری از حمل‌ونقل الکترون در زنجیره تنفسی و سبب ایجاد اختلال می شود (Yang *et al*., 2009). ریزجانداران روده به وضعیت سلنیوم جیره غذایی حساس هستند. نتایج نشان می‌دهد، جیره غذایی حاوی سلنیوم می‌تواند بر ترکیب و تعداد باکتری‌های موجود و استقرار آن‌ها در دستگاه گوارش، تأثیر بگذارد (Zhihua *et al*., 2011). حدود یک چهارم از جمعیت میکروبی روده توانایی بیان سلنوپروتئین‌ها را دارد؛ بنابراین، آن‌ها برای رشد بهینه نیاز به سلنیوم دارند. این استفاده از سلنیوم توسط ریزجانداران در دسترس بودن این عنصر را برای بیان سلنوپروتئین‌های میزبان کاهش می‌دهد. در نتیجه، جمعیت میکروبی مقدار نیاز میزبان به سلنیوم را افزایش می‌دهد (Kasaikina *et al*., 2011). به نظر می‌رسد باکتری‌های سودمند (از قبیل *لاکتوباسیلوس*) می‌توانند از طریق حذف رقابتی تعداد باکتری‌های مضر همانند *اشریشیاکلای* را در روده کاهش دهند. علاوه‌بر آن، در زمان استفاده از سلنیوم غیرآلی، کاهش جمعیت *لاکتوباسیل* سبب افزایش جمعیت *اشریشیاکلای* در دیواره روده جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده سلنیوم آلی می‌گردد (Ying *et al*., 2009). در واقع، سلنیوم آلی دارای قابلیت زیستی و تعامل بهتری با باکتری‌های مفید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به شکل‌های دیگر آن است؛ علاوه‌براین فرم آلی در مقایسه با معدنی سمیت کم‌تری دارد (Utterback *et al*., 2005). در موش، سگ و مرغ تخم‌گذار گزارش کردند که مصرف سلنیوم منجر به افزایش قابل‌توجهی در تعداد *لاکتوباسیلوس*‌ها و همچنین کاهش معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های *اشریشیاکلای* و *استافیلوکوکوس* در روده کور می‌گردد (Zhihua *et al*., 2011; Yang *et al*., 2009; Ying *et al*., 2009). اسیدیته مناسب تجمع باکتری‌های بیماری‌زا را در دیواره‌ی روده باریک کاهش داده، جمعیت باکتری‌های مفید را به‌شکل رقابتی افزایش و باعث کاهش تولید ترکیبات سمی باکتری‌ها و تغییر در ریخت‌شناسی دیواره روده پرندگان شده و در نتیجه، از تخریب و آسیب سلول‌های مخاطی دیواره روده جلوگیری می‌کند (Garcia *et al*., 2007). بیشتر باکتری‌های بیماری‌زا در اسیدیته نزدیک به هفت یا کمی بالاتر از آن رشد می‌کنند، درحالی‌که ریزجانداران مفید در محیط اسیدی رشد و تکثیر می‌شوند و با باکتری‌های بیماری‌زا رقابت می‌کنند (Ford, 1974). افزایش اسیدیته منجر به کاهش باکتری‌های *اشریشیاکلای* و *سالمونلا* در دستگاه گوارش می‌شود. با مصرف منابع آلی سلنیوم جمعیت ریزجانداران بیماری‌زا (باکتری‌های هوازی، *اشریشیاکلای* و *سالمونلا*) کاهش و به شکل رقابتی جمعیت *لاکتوباسیلوس*‌ها افزایش پیدا می‌کند و به دنبال افزایش فعالیت *لاکتوباسیل*‌ها اسیدیته دستگاه گوارش افزایش یافته که منجر به بهبود هضم و جذب و عملکرد خواهد شد (Samik *et al*., 2007).

با توجه به مطالبی که بیان شد از آنجا که هنوز جنبه‌های زیادی

از تأثیر مصرف منابع مختلف سلنیوم بر عملکرد طیور نا شناخته است لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف سلنیوم آلی و غیرآلی در جیره بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و اسیدیته روده کور در مرغ‌های تخم‌گذار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایشی به‌مدت ۱۲ هفته با استفاده از ۳۰۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سفید واریته های_لاین W-36 در مجموعه زنجیره تولیدی صالح کاشمر انجام شد. پس از دو هفته دوره سازگاری، مرغ‌ها به‌صورت انفرادی توزین و در واحدهای آزمایشی توزیع و تیمارها به‌طور تصادفی به آن‌ها اختصاص یافت. میانگین وزن ابتدایی مرغ‌ها ۱۵۰±۱۴۰۰ گرم بود. مرغ‌ها در شروع آزمایش ۲۳ هفته سن داشتند و با توجه به احتیاجات غذایی توصیه شده در راهنمای مدیریت تجاری سویه W-36 (سال ۲۰۱۵) با فرمول ذکر شده در جدول ۱ تغذیه شدند. هر تیمار شامل شش تکرار و ۱۰ قطعه مرغ تخم‌گذار بود. تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه شامل: ۱- شاهد (جیره پایه فاقد سلنیوم)، تیمار، ۲- جیره پایه + ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت_ سدیم، تیمار، ۳- جیره پایه + ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت_ سدیم، تیمار، ۴- جیره پایه + ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم_ متیونین، تیمار، ۵- جیره پایه + ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم_ متیونین بود. سلنیوم معدنی مورد استفاده به شکل سلنیت- سدیم (Na_2SeO_3) با خلوص ۴۲ در صد و سلنیوم آلی به شکل سلنیوم- متیونین با خلوص ۲۰۰۰ قسمت در میلیون بود. سلنیوم- متیونین مورد استفاده در این آزمایش تولید شده در شرکت دانش بنیان توسعه مکمل زیست‌فناور آریانا بود. در طی آزمایش مرغ‌ها دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند و برنامه نوردهی سالن شامل ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی بود و سعی شد تا تمامی شرایط پرورش نظیر نور و دما مطابق با راهنمای پرورش سویه باشد. مرغ‌ها در انتهای آزمایش برای محاسبه میانگین وزن پایان دوره به‌صورت انفرادی توزین و محاسبات آماری انجام می‌شود. تخم‌مرغ‌های تولیدی روزانه و در ساعت مشخصی جمع‌آوری و توزین می‌شدند. درصد تولید از تقسیم تعداد تخم‌مرغ تولیدی به تعداد مرغ موجود و وزن توده تخم مرغ تولیدی از حاصل‌ضرب درصد تولید در میانگین وزن تخم‌مرغ محاسبه شد.

در انتهای دوره آزمایش از هر تکرار دو قطعه پرنده که به میانگین وزن آن تکرار نزدیک بود، به‌طور تصادفی انتخاب و کشتار شد. به منظور بررسی ریخت‌شناسی روده باریک حدود ۰/۵ سانتی‌متر از بافت ژژنوم را بریده، به‌وسیله آب مقطر شست و شو داده و داخل فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. سپس، مقاطع عرضی با ضخامت پنج میکرون تهیه و با روش هماتوکسیلین_ ائوزین رنگ‌آمیزی شد. نمونه بافتی تهیه شد و سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری، پارامترهای طول ویلی، عرض ویلی، عمق کریپت و تعداد سلول‌های گابلت اندازه گیری شد. همچنین نسبت طول ویلی به عمق کریپت محاسبه شد (Haghighi-Khoshkhoo *et al*., 2010). مقدار یک گرم از محتویات روده کور در شرایط بدون آلودگی برداشته شد و در ۹ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. این مخلوط تا غلظت 10^{-7} رقیق سازی شد. سری رقت با استفاده از محلول استریل بافر فسفات PBS تهیه و شمارش باکتری‌های منتخب به‌روش قطره‌ای و محیط‌های کشت مناسب به شرح زیر انجام شد. این رقت‌های ساخته شده میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت MRS جهت شمارش باکتری‌های تولیدکننده لاکتیک‌اسید کشت شد. در محیط کشت Macconkey agar برای شمارش *اشرشیاکلای* و محیط کشت Brilliant green agar جهت شمارش *سالمونلا*، شمارش کل جمعیت باکتری‌های هوازی از محیط کشت Nutrient agar به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. پس از طی زمان انکوباسیون تعداد کلنی‌های رشد کرده روی پلت‌ها که بین ۳۰ تا ۳۰۰ بودند، شمارش شدند و جمعیت باکتری‌ها بر اساس CFU/g محتویات روده کور گزارش شد (Hashemi *et al*., 2012). برای محاسبه اسیدیته روده کور، یک گرم از محتویات روده کور برداشته و در نه میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه ریخته شد، سپس به‌وسیله پی‌اچ‌متر اندازه‌گیری شد. داده‌های آزمایش پس از بررسی های لازم از نظر نرمال بودن و آزمون همگنی واریانس ها توسط نرم‌افزار SAS (SAS, 2013) در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می شود، نتایج نشان می‌دهد درصد تولید، توده وزنی تخم‌مرغ و متوسط وزن تخم‌مرغ تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ($P>0/05$). نتایج حاصل از مصرف سلنیوم آلی و معدنی بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی در رابطه با وزن در مرغ تخم‌گذار می‌باشد؛ به این ترتیب که بالاترین وزن نهایی بدن در تیمار یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم معدنی مشاهده شد، درحالی‌که کمترین وزن بدن در تیمارهای بدون سلنیوم و تیمار یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم آلی مشاهده شد ($P<0/05$)؛ سایر مقایسات تیماری تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند ($P>0/05$).

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌ی پایه

Table 1- Ingredients and chemical composition of the basal diet

اجزا متشکله Components	%
ذرت Corn (CP=8%)	58.7
کنجاله سویا Soybean meal (CP=44%)	30
روغن سویا Soybean oil	1.2
کربنات کلسیم Calcium carbonate	7
دی‌کلسیم‌فسفات Dicalcium phosphate	2
کلریدسدیم Sodium chloride	0.28
دی‌ال‌متیونین DL-Methionine	0.2
ال‌لیزین‌هیدروکلرید L-Lysine HCl	0.12
مکمل معدنی (بدون سلنیوم)[1] Mineral premix (without selenium)[1]	0.25
مکمل ویتامینه[2] Vitamin premix [2]	0.25
ترکیب شیمیایی Chemical composition	
انرژی قابل متابولسیم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolizable energy (Kcal/kg)	2840
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	17.02
کلسیم (درصد) Calcium (%)	4.4
فسفر قابل‌دسترس (درصد) Available phosphorous (%)	0.52
لیزین قابل‌هضم (درصد) Digestible lysine (%)	0.94
متیونین قابل‌جذب (درصد) Digestible methionine (%)	0.45
متیونین‌سیستین قابل‌جذب (درصد) Digestible methionine+cystine (%)	0.7
تعادل آنیون–کاتیون (میلی‌اکی‌والان/گرم) (mEq/g) Anion-cation balance	217

[1] هر کیلوگرم از جیره حاوی: ۵۵ میلی‌گرم آهن، ۸۸ میلی‌گرم منگنز، ۸۸ میلی‌گرم روی، ۵/۵ میلی‌گرم مس، ۱/۷ میلی‌گرم ید.

[2] هر کیلوگرم از جیره حاوی: ۸۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۳۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱۶۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲/۲ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۵/۵ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۲۸ میلی‌گرم ویتامین B_3، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین B_5، ۳/۳ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۰/۶ میلی‌گرم ویتامین B_9، ۲۲/۱ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۵۵ میلی‌گرم بیوتین، ۱۱۰ گرم کولین کلراید و ۴۰۰ میلی‌گرم B.H.T. بود.

[1] Provides per kilogram of diet: Iron, 55 mg; manganese, 88 mg; zinc, 88 mg; copper, 5.5mg; iodine, 1.7 mg.

[2] Provides per kilogram of diet: vitamin A, 8800000 IU; vitamin D_3, 3300000 IU; vitamin E, 16500 IU; vitamin K_3, 2.2 mg; vitamin B_1, 2.5 mg; vitamin B_2, 5.5 mg; vitamin B_3, 28 mg; vitamin B_5, 6.6 mg; vitamin B_6, 3.3 mg; vitamin B_9, 0.6 mg; vitamin B_{12}, 22.1 mg; vitamin B_7, 55 mg and choline chloride, 110 g.

مشابه با نتایج این بررسی بسیاری از محققین گزارش کرده‌اند که استفاده از مکمل سلنیوم در جیره تأثیری بر تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ و توده وزنی در مرغ‌های تخم‌گذار ندارد (Chantiratikul *et al*., 2008; Jiakui and Xialong, 2004). نتایج نشان دادند مصرف سلنیوم آلی در مرغ‌های تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر درصد تولید تخم‌مرغ نداشت (Payne *et al*., 2005; Utterback *et al*., 2005). از سوی دیگر، برخی نتایج حاکی از افزایش درصد تولید تخم‌مرغ، توده وزنی تخم‌مرغ با مصرف منابع سلنیوم می‌باشد که با نتایج این بررسی در تضاد است. نتایج بررسی Attia و همکاران (Attia *et al*., 2010) نشان داد، مصرف سلنیوم مخمر در جیره مرغ‌های تخم‌گذار سبب افزایش معنی‌دار وزن تخم‌مرغ و وزن توده تخم‌مرغ در مقایسه با سلنیوم معدنی شد. مصرف ۰/۲ قسمت در میلیون سلنیوم به شکل معنی‌داری سبب بهبود بازده تخم‌مرغ شد. مصرف مخمرسلنیوم در مقایسه با سلنیوم معدنی سبب افزایش معنی‌دار در صد تولید تخم‌مرغ می شود (Scheideler *et al*., 2010). تناقضات مشاهده در بین نتایج محققین می‌تواند به سطوح سلنیوم مورد استفاده در جیره پایه برگردد.

افزودن مکمل سلنیوم به جیره باعث افزایش وزن نهایی در جوجه‌های گوشتی شد (Heindl *et al*., 2010). سلنیوم جزئی از آنزیم ۵- یدوتیرونین‌دی‌یدیناز است. این آنزیم کاتالیزور واکنش تبدیل تیروکسین (T_4) به تری‌یدوتیرونین (T_3) است و در نتیجه، سلنیوم با نقشی که در هورمون تیروئید دارد، باعث بهبود رشد می شود. سلنیوم آلی و معدنی بر عملکرد پرنده، در پاسخ رشد پرندگان به مکمل سلنیوم به سطح استرس پرنده بستگی دارد. پرندگانی که با مکمل آلی در سلنیوم تغذیه شدند، افزایش وزن روزانه بیشتری داشتند (Holovsk *et al*., 2013).

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای تولید تخم مرغ در کل دوره تولید مرغ‌های تخم گذار

Table 2- Effect of experimental treatments on the egg production traits of laying hens in whole production period

تیمارهای آزمایشی Treatments	درصد تولید (٪) Egg production (%)	توده وزنی (گرم/پرنده/روز) Egg mass (g/hen/d)	وزن تخم‌مرغ (گرم) Egg weight (g)	وزن بدن (کیلوگرم) Body weight (kg)
شاهد Control	91.01	50.34	55.29	1495.38^{b}
سلنیت-سدیم ۰/۵ SeNa0.5	92.40	51.45	55.65	1520.37^{ab}
سلنیت-سدیم ۱ SeNa1	91.96	51.32	55.80	1549.15^{a}
سلنیوم-متیونین ۰/۵ SeMet0.5	90.83	50.17	55.24	1524.33^{ab}
سلنیوم-متیونین ۱ SeMet1	90.08	49.47	54.92	1506.16^{b}
خطای معیار SEM	1.681	1.091	0.351	0.013
سطح احتمال P-value	0.872	0.681	0.432	9.51

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Values within a column with different superscripts different at (P<0.05).

جدول ۳ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ریخت شناسی ژژنوم در مرغ تخم‌گذار را نشان می‌دهد. طول پرز، عرض پرز، عمق کریپت، تعداد سلول‌های گابلت، نسبت طول پرز به عمق کریپت و مساحت پرز تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

بررسی ساختار بافتی قسمت ژژنوم روده باریک از این نظر می‌تواند مهم باشد که طبق گزارش‌های انجام‌شده این قسمت از روده باریک به‌عنوان ناحیه عمده جذب از دستگاه گوارش در نظر گرفته می‌شود (Hattori and Taylor, 2009). عوامل زیادی مانند سن، میکروفلور روده و مواد غذایی بر روی ارتفاع پرز ها و رشد تأثیر می‌گذارد (Yamauchi *et al*., 2006). تغییر در دیواره‌ی روده و سطح جذب مواد مغذی را به حضور ریزجانداران بیماری‌زا ربط داده‌اند؛ افزایش تعداد باکتری‌های بیماری‌زا در روده عامل کوتاه شدن پرزها و کاهش لایه‌های پوششی است (Cooke and Bird, 1973). مشابه با نتایج این تحقیق، نتایج بررسی‌های متعددی نشان می‌دهد، مصرف جیره‌های حاوی ترکیبات سلنیوم اثرات از بین برنده‌ای بر باکتری‌های مضر روده دارد (Dhingra and Bansal, 2006; Lukaszewicz *et*

al., 2011; Koyancu and Yerlikaya. 2007; Pappas *et al.*, 2005; Shabani *et al.*, 2019). افزودن نانوسلنیوم به جیره جوجه‌های گوشتی به‌دلیل رشد پرزها و لامیناپروپریا[1] روده باعث افزایش وزن روده‌ها می‌شود (Kasaikina *et al.*, 2011; Marina *et al.*, 2011). همچنین مشابه با نتایج این بررسی با افزایش جمعیت ریزجانداران مفید (لاکتوبا سیل‌ها)، کاهش اسیدیته تجمع باکتری‌های بیماری‌زا را در دیواره روده باریک کاهش داده و باعث کاهش تولید ترکیبات سمی به‌وسیله باکتری‌ها و تغییر در ریخت‌شناسی دیواره روده پرندگان شده و در نتیجه، از تخریب و آسیب سلول‌های مخاطی دیواره روده جلوگیری می کند (Garcia *et al.*, 2007). افزایش اسیدیته به کمتر از شش و تحریک رشد میکروفلور مفید زمینه فعالیت آنزیم‌ها را نیز بهبود می‌بخشد (Antongiovanni *et al.*, 2007). از سویی، سلنیوم برای حفظ ساختار لوزالمعده ضروری است که در نتیجه، سبب بهبود هضم و جذب مواد مغذی از روده می شود؛ بهبود هضم و جذب سبب رشد اندام‌ها از جمله بخش‌های مختلف دستگاه گوارش می‌شود؛ بنابراین، می‌تواند بر ریخت شناسی روده مؤثر باشد. مشابه با نتایج این بررسی گزارش شده است، استفاده از سطوح مختلف سلنیوم در بلدرچین ژاپنی، هیچ تأثیری بر طول پرز روده کوچک ندارد (Ahmadi *et al.*, 2019). سلنیوم معدنی هیچ تأثیری در ارتفاع پرزها در مقایسه با جیره شاهد نداشت (Zamani-Moghaddam *et al.*, 2017). از سوی دیگر، گزارش شده سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیت‌سدیم تأثیر مثبتی در محافظت از پرزهای روده در برابر بیماری‌ها دارد و باعث افزایش طول پرزها و عمق کریپت در ژژنوم و ایلئوم می‌شود (Read-Snyder *et al.*, 2009). مخمرسلنیوم در جوجه گوشتی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش طول پرز، نسبت طول پرز به عمق کریپت شد (Tong *et al.*, 2020). کمبود سلنیوم باعث التهاب مخاط روده می‌شود (Liu *et al.*, 2016). نتایج یک بررسی دیگر نشان می‌دهد کمبود سلنیوم بر مخاط و سلول‌های ژژنوم تأثیر می‌گذارد (Wang *et al.*, 2011).

لذا با توجه مطالب عنوان‌شده معنی‌دار نشدن فراسنجه‌های ریخت شناسی می‌تواند به سطوح مورد استفاده سلنیوم و همچنین در شرایط استرس قرار نداشتن پرنده نسبت داده شود؛ چرا که سلنیوم با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در شرایط تنش می‌تواند به‌شکل مؤثرتری عمل نماید و بر روی هر یک از این بخش ها تأثیرخود را اعمال نماید.

جدول ۴ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روی جمعیت میکروبی روده کور مرغ‌های تخم‌گذار را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد، مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک به‌شکل معنی‌داری سبب کاهش جمعیت باکتری‌های هوازی نسبت به شاهد و تیمارهای حاوی سلنیت- سدیم شد (P<۰/۰۵). با این حال، تفاوت معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های هوازی بین تیمارهای مصرف‌کننده سطوح ۰/۵ و یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین مشاهده نشد (P>۰/۰۵). مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین سبب افزایش معنی‌دار جمعیت *لاکتوبا سیلوس* روده کور در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد (P<۰/۰۵). همچنین مصرف ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین و یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت- سدیم سبب افزایش معنی‌دار جمعیت *لاکتوباسیلوس* در مقایسه با شاهد شدند (P<۰/۰۵)؛ با این حال، جمعیت *لاکتوباسیلوس* بین تیمارهای مصرف‌کننده سلنیت- سدیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی سبب کاهش معنی‌دار جمعیت *اشرشیاکلای* شد (P<۰/۰۵). همچنین منابع آلی در مقایسه با منابع معدنی به‌شکل مؤثرتری جمعیت *اشرشیاکلای* روه کور را کاهش داد (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد مصرف ۰/۵ و یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین. همچنین مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت- سدیم سبب کاهش معنی‌دار جمعیت *سالمونلا* در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد (P<۰/۰۵).

ریزجانداران روده به وضعیت سلنیوم جیره غذایی حساس هستند و سلنیوم می‌تواند بر ترکیب و تعداد باکتری‌های موجود و استقرار آن‌ها در دستگاه گوارش تأثیرگذار باشد (Kasaikina *et al.*, 2011). این یافته ممکن است به استفاده از سلنیوم توسط ریزجانداران مختلف و سمیت سلنیوم بر روی میکروب‌های مشخصی مرتبط باشد. البته اثر سمی سلنیوم بر روی باکتری‌ها بسته به نوع منبع سلنیوم موجود در جیره دارد (Marina *et al.*, 2011). در چندین بررسی (Shabani *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2009; Zhihua *et al.*, 2011) گزارش شده است استفاده از نانوسلنیوم و سلنیوم- متیونین جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم را کاهش می‌دهند؛ که در زمان استفاده از منبع معدنی سلنیوم در جیره، کاهش جمعیت لاکتوباسیل سبب افزایش جمعیت *اشرشیکلای* در روده جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده نانوسلنیوم و سلنیوم آلی می‌گردد که در انطباق کامل با نتایج این بررسی است.

حدود یک چهارم از جمعیت میکروبی روده توانایی بیان سلنوپروتئین‌ها را دارد؛ بنابراین، آن‌ها برای رشد بهینه نیاز به سلنیوم دارند. این استفاده از سلنیوم توسط ریزجانداران در دسترس بودن این عنصر را برای بیان سلنوپروتئین‌های میزبان کاهش می‌دهد. در نتیجه، جمعیت میکروبی مقدار نیاز میزبان به سلنیوم را افزایش می‌دهد (Kasaikina *et al.*, 2011). مشابه با نتایج این بررسی گزارش شد تعداد کل باکتری‌ها و باکتری *اشرشیاکلای* در روده در زمان مصرف

1-Lamina propria

سلنیوم آلی و غیرآلی کاهش می‌یابد. همچنین مشابهاً تعداد کل باکتری‌های هوازی در ژژنوم و روده کور پرندگان تغذیه شده با سلنیوم آلی کمتر بود؛ به نظر می‌رسد باکتری های سودمند (از قبیل *لاکتوباسیلوس*) می‌توانند از طریق حذف رقابتی تعداد باکتری‌های مضر همانند *اشریشیاکلای* را در روده کاهش دهند. علاوه‌بر آن، در زمان استفاده از سلنیوم معدنی، کاهش جمعیت لاکتوباسیل سبب افزایش جمعیت *اشریشیاکلای* در دیواره روده جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده سلنیوم آلی می‌گردد (Ying *et al.*, 2009). در واقع، سلنیوم آلی دارای قابلیت زیستی و تعامل بهتری با باکتری‌های مفید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به شکل‌های دیگر آن است؛ علاوه‌براین فرم آلی در مقایسه با معدنی سمیت کم‌تری دارد (Utterback *et al.*, 2005). گزارش کردند مصرف سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم نانو سلنیوم تأثیر معنی‌داری بر جمعیت کل باکتری‌های ایلئوم در جوجه گوشتی نداشت، با این حال مصرف ۰/۳ میلی‌گرم نانو سلنیوم سبب کاهش معنی‌دار جمعیت *اشرشیاکلای* ایلئوم شد (SohiratTorfyet *al.*, 2016). مشابه با نتایج این تحقیق، در موش (Yang *et al.*, 2009)، سگ (Zhihua *et al.*, 2011) و مرغ تخم‌گذار (Ying *et al.*, 2009) گزارش کردند که مصرف سلنیوم منجر به افزایش قابل‌توجهی در تعداد *لاکتوباسیلوس*‌ها و همچنین کاهش معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های *اشرشیاکلای* و *استافیلوکوکوس* در روده کور می‌گردد.

جدول ۳– اثر سلنیت- سدیم و سلنیوم- متیونین بر ریخت‌شناسی ژژنوم مرغ‌های تخم‌گذار

Table 3- Effect of selenite-sodium and selenium-methionine on the morphology of the jejunum of laying hens

تیمارهای آزمایشی Treatments	ارتفاع پرز (میلی‌متر) Height of villi (mm)	عرض پرز (میلی‌متر) Villous width (mm)	عمق کریپت (میلی‌متر) Crypt depth (mm)	سلول‌های گابلت Goblet cell	ارتفاع پرز به عمق کریپت Height of villi/ crypt depth	مساحت پرز (میلی‌متر۲) Villous surface area (mm^2)
شاهد Control	1021.00	167.67	105.33	0.706	9.740	169955
سلنیت-سدیم ۰/۵ SeNa0.5	958.68	123.33	97.00	.0898	10.153	116883
سلنیت-سدیم ۱ SeNa1	1077.67	123.33	116.33	1.136	9.386	141258
سلنیوم-متیونین ۰/۵ SeMet0.5	978.67	125.67	105.67	1.043	9.366	122458
سلنیوم-متیونین ۱ SeMet1	925.33	112.33	109.67	0.655	8.851	103556
خطای معیار SEM	54.46	19.38	9.12	0.16	0.59	19563.72
سطح احتمال P-value	0.346	0.343	0.668	0.225	0.632	0.175

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Values within a column with different superscripts different at (P<0.05).

جدول ۵ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر اسیدیته محتویات روده کور مرغ‌های تخم‌گذار را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد مصرف یک میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین سبب افزایش معنی‌دار اسیدیته محتویات روده کور در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد (P<۰/۰۵). همچنین مصرف ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم- متیونین سبب افزایش معنی‌دار اسیدیته محتویات روده کور نسبت به تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم سلنیت- سدیم و شاهد شد (P<۰/۰۵).

اسیدیته مناسب تجمع باکتری‌های بیماری‌زا را در دیواره روده باریک کاهش داده، جمعیت باکتری‌های مفید را به‌شکل رقابتی افزایش و باعث کاهش تولید ترکیبات سمی باکتری‌ها و تغییر در مورفولوژی دیواره روده پرندگان شده و در نتیجه، از تخریب و آسیب سلول‌های مخاطی دیواره روده جلوگیری می‌کند (Garcia *et al.*, 2007). بیشتر باکتری‌های بیماری‌زا در اسیدیته نزدیک به هفت یا کمی بالاتر از آن رشد می‌کنند، درحالی‌که ریزجانداران مفید در محیط اسیدی رشد و تکثیر می‌شوند و با باکتری‌های بیماری‌زا رقابت می‌کنند (Ford,1974). افزایش اسیدیته منجر به کاهش باکتری های

اشرشیاکلای و *سالمونلا* در دستگاه گوارش می‌شود (Samik *et al.*, 2007). مشابه همین نتیجه، در پی مصرف منابع آلی سلنیوم نسبت به شــاهد به‌دســت آمد؛ به این ترتیب که با مصــرف منابع آلی ســلنیوم جمعیت ریزجانداران بیماری‌زا (باکتری‌های هوازی، *اشــرشــیاکلای* و *ســالمونلا*) کاهش‌یافته و به‌شــکل رقابتی جمعیت *لاکتوباســیلوس*‌ها افزایش پیدا کرده اســـت و به دنبال افزایش فعالیت لاکتوباســـیل‌ها اسیدیته دستگاه گوارش افزایش‌یافته که منجر به بهبود هضم و جذب و عملکرد شده است (Samik *et al.*, 2007).

جدول ٤- اثر سلنیت- سدیم و سلنیوم- متیونین بر جمعیت میکروبی روده کور مرغ‌های تخم‌گذار (log cfu/g^{-1})

Table 4- Effect of selenite-sodium and selenium-methionine on the cecal microbial population of laying hens (log cfu/g^{-1})

تیمارهای آزمایشی Treatments	باکتری‌های هوازی Aerobic bacteria	*لاکتوباسیوس* *Lactobacillus*	*اشرشیاکلای* *Escherichia coli*	*سالمونلا* *Salmonella*
شاهد Control	10.757[a]	7.370[d]	5.248[a]	2.926[a]
سلنیت-سدیم ۰/۵ SeNa0.5	10.537[ab]	7.455[bd]	5.111[b]	2.866[ab]
سلنیت-سدیم ۱ SeNa1	10.511[b]	7.564[bc]	5.025[c]	2.835[b]
سلنیوم-متیونین ۰/۵ SeMet0.5	10.435[bc]	7.600[b]	4.091[d]	2.793[b]
سلنیوم-متیونین ۱ SeMet1	10.333[c]	7.792[a]	4.835[e]	2.647[c]
خطای معیار SEM	0.048	0.037	0.021	0.025
سطح احتمال P-value	0.0013	0.0001	0.0001	0.0001

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Values within a column with different superscripts different at (P<0.05).

جدول ٥- اثر سلنیت_سدیم و سلنیوم- متیونین بر اسیدیته محتویات روده کور مرغ‌های تخم‌گذار

Table 5- Effect of selenite-sodium and selenium-methionine on cecal acidity in laying hens

تیمارهای آزمایشی Treatments	پی اچ pH
شاهد Control	6.57[a]
سلنیت-سدیم ۰/۵ SeNa0.5	6.55[a]
سلنیت-سدیم ۱ SeNa1	6.37[ab]
سلنیوم-متیونین ۰/۵ SeMet0.5	6.23[b]
سلنیوم-متیونین ۱ SeMet1	5.93[c]
خطای معیار SEM	0.089
سطح احتمال P-value	0.0001

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Values within a column with different superscripts different at (P<0.05).

عدم تأثیر معنی‌دار مصرف منابع معدنی سلنیوم در مقایسه با شاهد بر افزایش ا سیدیته د ستگاه گوارش می‌تواند به‌میزان جذب آن و تأثیر این منابع بر جمعیت‌های میکروبی دســـتگاه گوارش مرتبط باشـــد. گزارش‌هایی مبنی بر قابلیت بالاتر جذب برای مکمل آلی سـلنیوم در

مقایسه با سلنیوم معدنی داده شده است (Yousefi *et al*., 2017)؛ جذب بالاتر به معنی تأثیرگذاری بیشتری می‌باشد. گزارش شده مصرف نانوسلنیوم و سلنیوم- متیونین جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم را کاهش می‌دهند. حال آن که در زمان استفاده از منبع معدنی سلنیوم در جیره، کاهش جمعیت لاکتوباسیل سبب افزایش جمعیت *اشرشیاکلای* در روده جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده نانوسلنیوم و سلنیوم آلی می‌گردد (Yang *et al*., 2009; Zhihua *et al*., 2011).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این بررسی، می‌توان عنوان داشت مصرف منابع آلی سلنیوم (سطوح یک و ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم- متیونین در هر کیلوگرم خوراک) به‌شکل معنی‌داری سبب کاهش جمعیت باکتری‌های مضر هوازی، باکتری‌های *سالمونلا* و *اشرشیاکلای* شده و سبب افزایش رقابتی جمعیت مفید *لاکتوباسیلوس*‌ها می‌شود؛ پیامد این عمل افزایش اسیدیته روده کور و کاهش آسیب و تخریب میکروبی به بافت روده است و لذا، با تغییرات مثبتی در ریخت‌شناسی روده باریک منجر به بهبود عملکرد پرنده خواهد شد. لذا، مصرف سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیوم معدنی کارایی بالاتری داشته و بر عملکرد مؤثرتر می‌باشد.

سپاسگزاری

از شرکت دانش‌بنیان توسعه مکمل زیست‌فناور آریانا بابت تأمین سلنیوم آلی، زنجیره تولید یکپارچه گوشت مرغ صالح کاشمر، به‌ویژه جناب آقای قدیر صالحی که در اجرای این طرح کمک کرده‌اند و معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Ahmadi, M., Ahmadian, A., Poorghasemi, M., Makovicky, P., & Seidavi, A. (2019). Nano-Selenium affects on duodenum, jejunum, ileum and colon characteristics in chicks: An animal model. *International Journal of Nano Dimension*, *10*(2), 225-229.
2. Antongiovanni, M., Buccioni, A., Petacchi, P., Leeson, S., Minieri, S., Martini, A., & Cecchi, R. (2007). Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens: Effects on gut histology and carcass composition. *Italian Journal of Animal Science*, *6*(1),9-25. DOI: 10.4081/ijas.2007.19
3. Arner, E. S. J. (2012). History of selenium research. *Journal of Food Science*, *58*, 1-19.
4. Attia, Y. A., Abdalah, A. A., Zeweil, H. S., Bovera, F., Tag El-Din, A. A., & Araft, M. A. (2010). Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. *Czech Journal of Animal Science*. 55(11): 505-519.
5. Chantiratikul, A., Chinrasri, O., & Chantiratikul, P. (2008). Effect of sodium selenite and zinc-L-selenomethionine on performance and selenium concentrations in eggs of laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. *21*(7), 1048-1052.
6. Chitra P., Edwin, S. C. & Moorthy, M. (2013). Effect of dietary vitamin E and selenium supplementation on Japanese quail broilers. *Indian Journal of Veterinary and Animal Science Research, 43*(3): 195-205.
7. Cooke, R. H. & Bird. F. H. (1973). Duodenal villus area and epithelial cellular migration in conventional and germ-free chicks. *Poultry Science*, *52*(6), 2276-2280.
8. Dhingra, S. &Bansal, M. P. (2006). Attenuation of LDL receptor gene expression by selenium deficiency during hypercholesterolemia. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *282*(1), 75-82.DOI: 10.1007/s11010-006-1266-1.
9. Ebrahimi. H. (2007). Intestinal ecology: Interactions between nutrition, gastrointestinal tract and microbial population. *Chakawk*, *16*(3), 51-69. (In Persian).
10. Ford. D. J. (1974). The effect of microflora on gastrointestinal pH in the chick. British *Poultry Science*, 15(1), 131-140. DOI: 10.1080/00071667408416086
11. Garcia, V., Catala-Gregori, P. Hernandez, F., Megias, M. D. & Madrid, J. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, *16*(4), 555-562. DOI: 10.3382/japr.2006-00116
12. Ghiasi Ghalehkandi, J., Valil, M. R., Ebrahimnazhad, Y., Salamatdoust Nobar, R., Karamouz, H. & Nazeri, M. (2011). Effect of different levels of perlite on performance of broiler chicks. *Advances in Environmental Biology*. *5*(4), 776-779.
13. Haghighi-khoshkhoo, P., Akbari-Azad, G., Moayer, F., & Pajohandeh, A. H. (2010). The effect of butyrate oral additive on breeding efficiency and small intestine morphology in broilers. *Journal of Veterinary Clinical Research*, *1*(4), 242-235. (In Persian).
14. Hashemi, S. R., Zulkifli, I., Davoodi, H., Zunita, Z., & Ebrahimi, M. (2012). Growth performance, intestinal microflora, plasma fatty acid profile in broiler chickens fed herbal plant (*Euphorbia hirta*) and mix of acidifiers. *Animal Feed Science and Technology*, *178* (4), 167-174. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2012.09.006
15. Hattori, M., & Taylor, T. D. (2009). The human intestinal microbiome: A new frontier of human biology. DNA

Research, *16*(1), 1-12. DOI: 10.1093/dnares/dsn033
16. Heindl, J., Ledvinka, Z., Tumova, E., & Zita, L. (2010). The importance, utilization and sources of selenium for poultry: A review. *Scientia Agriculturae Bohemica*. *41*(1), 55-64.
17. Holovsk, J. R., K. Holovsk, K. V., Boldiz, S., Cekonov, O. V., Len, M. Levkut, Javorsk, P., & Leng, L. (2003). Antioxidant enzyme activity in liver tissue of chickens fed diets supplemented with various forms and amounts of selenium. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 12(1), 143-152. DOI: 10.22358/jafs/67691/2003
18. Horn, N. L., Donkin, S. S., Applegate, T. J., & Adeola, O. (2009). Intestinal mucin dynamics: Response of broiler chicks and White Pekin ducklings to dietary threonine. *Poultry Science*, *88*(9): 1906-1914. DOI: 10.3382/ps.2009-00009
19. Jiakui, L. & Xiaolong, W. (2004). Effect of dietary organic versus inorganic selenium in laying hens on the productivity, selenium distribution in egg and selenium content in blood, liver and kidney. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. *18*(1): 65-68. DOI: 10.1016/j.jtemb.2004.04.002
20. Kasaikina M. V., Kravtsova, M. A., Lee, B. C., Seravalli, J., Peterson, D. A., Walter, J., Legge, R., Benson, A., Hatfield, D. L., & Gladyshev, V. N. (2011). Dietary selenium affects hostselenoproteome expression byinfluencing the gut microbiota. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, *25*(7): 2492-2499. DOI: 10.1096/fj.11-181990
21. Koyancu, M., & Yerlikaya, H. (2007). Effect of selenium vitamin E injections of ewes on reproduction and growth of their quail broilers. *South African Journal of Animal Science*. *37*(3): 233-236.
22. Langhout, D. J., Schutte, J. B., Van Leeuwen, P., Wiebenga, J., & Tamminga, S. (1999). Effect of dietary high and low methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chickens. *British Poultry Science*. *40*(3): 340-347. DOI: 10.1080/00071669987421
23. Liu, Z., Qu, Y., Wang,J., & Wu, R. (2016). Selenium deficiency attenuates chicken duodenal mucosal immunity via activation of the NF-b signaling pathway. *Biological Trace Element Research*. *172*(2): 465-473. DOI: 10.1007/s12011-015-0589-8
24. Lukaszewicz, E., Kowalczyk, K., & Jerysz, A. (2011). The effect of sex and feed supplementation with organic selenium and vitamin E on the growth rate and zoometrical body measurements of oat-fattened White Koluda geese. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *35*(6): 435-442. DOI: 10.3906/vet-1008-420
25. Marina, V., Kasaikina, M. A., Kravtsova, B. L., Javier, S., Daniel, A., Peterson, J. W., Ryan- Ledge, A. K., Benson, D. H., & Vadim, N. J. (2011). Dietary selenium effects host selenoproteome expression by influencing the gut microbiota. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, *25*(7): 2492–2499. DOI: 10.1096/fj.11-181990
26. Mehrbakhsh-Bandari, M. A., Asadpour, L., & Poorhamad, A. (2017). Antibacterial effect of selenium and selenium-ampicillin nanoparticles on clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, *11*(6):184-191. (In Persian).
27. Pappas, A. C., Acamovic, T., Sparks, N. H. C., Surai, P. F., & Devitt, R. M. (2005). Effects of supplementing broiler breeder diets with organic selenium and polyunsaturated fatty acids on egg quality during storage. *Poultry Science*, *84*(6): 865-874. DOI: 10.1093/ps/84.6.865
28. Payne, R. L., Lavergne, T. K., & Southern, L. L. (2005). Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. *Poultry Science*. *84*(2): 232-237. DOI: 10.1093/ps/84.2.232
29. Read-Snyder, J., Edens, F. W., Cantor, A. H., Pescatore, A. J., & Pierce, J. L. (2009). Effect of dietary selenium on small intestine villus integrity in reovirus-challenged broilers. *International Journal of Poultry Science*. *8*(9): 829-835. DOI: 10.3923/ijps.2009.829.835
30. Samik, K. P., Gobinda, H., Manas, K. M., & Gautam, S. (2007). Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. *Poultry Science*, *44*: 389-395. DOI: doi.org/10.2141/jpsa.44.389
31. SAS .2013. The SAS System for Windows, Release 9.4. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, 556 p.
32. Scheideler, S., Weber, P., & Monsalve, D. (2010). Supplemental vitamin E and selenium effects on egg production, egg quality, and egg deposition of α-tocopherol and selenium. *Journal of Applied Poultry Research. 19*(4): 354-360. DOI: 10.3382/japr.2010-00198
33. Shabani, R., Fakhraei, G., Mansouri-Yarahmadi, H., & Seydavi, A. (2019). Effect of different sources of selenium supplement on yield, carcass characteristics, ileum bacterial population, blood parameters, liver enzymes, hormonal activity and antioxidant activity of blood plasma in broilers. *Journal of Animal Environment*, *12*(3):85-97. (In Persian).
34. Sohirat Torfy, M., Mirzadeh, K. H., Tabatabaei, M., Vakili, S., & Chabi, M. 2016. Effects of different levels of water-soluble nanosellenium on yield, bacterial ileum population, macroscopic characteristics, some blood biochemical parameters and litter quality in broilers. *Journal of Animal Science Research*, *26*(4):32-47. (In Persian).
35. Tong, C., Peng, L., Li-Hui, Y., Lin, L., Kang, L., & Yueli, C. (2020). Selenium-rich yeast attenuates ochratoxin A-induced small intestinal injury in broiler chickens by activating the Nrf2 pathway and inhibiting NF-KB activation. *Journal of Functional Foods*, *12*(14): 6150-16158. DOI: 10.1016/j.jff.2020.103784
36. Utterback, P. L., Parsons, C. M., Yoon, I., & Butler, J. (2005). Effect of supplementing selenium yeast in diets of

laying hens on egg selenium content. *Poultry Science*, *84*(12): 1900-1901. DOI: 10.1093/ps/84.12.1900

37. Wang, B., Wang, G. E., Yue, W. B., Zhang, M. A., & Shi, X. P. (2011). Effects of different selenium sources on production performance, slaughter performance, meat quality, immune and antioxidant in the early goose. *Journal Animal Physiology and Animal Nutrition*, *95* (4): 440-8
38. Yamauchi, K., Buwjoom, T., Koge, K., & Ebashi, T. (2006). Histological intestinal recovery in chickens refed dietary sugar cane extract. *Poultry Science*. *85*(4): 645-651. DOI: 10.1093/ps/85.4.645
39. Yang, J., Huang, K., Qin, S., Wu, X., Zhao, Z., & Chen, F. (2009). Antibacterial action of selenium-enriched probiotics against pathogenic Escherichia coli. *Digestive Diseases and Sciences*, *54*(2): 246-254.
40. Ying, Q., Wang, Z., & Cai, S. (2009). Study on the effects of different selenium sources on production performance of broilers. *Henan Agricultural University*. p. 831.
41. Yousefi, M., Qabel, M. R., Ghaziani-Shad, A., & Pourhamad, A. (2017). The effect of organic and inorganic selenium supplementation on performance, reproduction, some blood parameters and immune system of broilers. *Research and Construction*, *2*:12-19. (In Persian).
42. Zamani-Moghaddam, A. K., Mehraei-Hamzekolaei, M. H., Khajali, F. & Hassanpour, H. (2017). Role of selenium from different sources in prevention of pulmonary arterial hypertension syndrome in broiler chickens. *Biological Trace Element Research*. *180*(1): 164-170. DOI: 10.1007/s12011-017-0993-3
43. Zhihua, R., Zhiping, Z., Yangquan,W., & Kehe, H. (2011). Preparation of selenium/zinc-enriched probiotics and their effect on blood selenium and zinc concentrations, antioxidant capacities and intestinal micro flora in canine. *Biological Trace Element Research*, *141*(1): 170-183. DOI: 10.1007/s12011-010-8734-x